



(19) RU⁽¹¹⁾ 2 191 599⁽¹³⁾ C1

(51) МПК⁷ A 61 K 39/116, C 12 N 1/20//(A
61 K 39/116, 39:02, 39:07,
39:114), (C 12 N 1/20, C 12 R 1:07)

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21), (22) Заявка: 2001129336/13, 01.11.2001

(24) Дата начала действия патента: 01.11.2001

(46) Дата публикации: 27.10.2002

(56) Ссылки: RU 2098127 C1, 10.12.1997. RU 2112544 C1, 10.06.1998. RU 2141340 C1, 20.11.1999. RU 2098128 C1, 10.12.1997. EP 0366550 A1, 25.10.1989. FR 2638090 A1, 25.10.1988. RICHARD CL. Bull. Soc. Veter. Pratique France. 1977, t.6, n.5, p.307-309.

(98) Адрес для переписки:
141142, Московская обл., Щелковский р-н, п.
Биокомбинат, 5, кв.97, Н.В. Мельнику

(71) Заявитель:

Караваев Юрий Дмитриевич,
Селиверстов Василий Витальевич,
Мельник Николай Васильевич,
Скичко Николай Данилович,
Гаврилов Владимир Андреевич

(72) Изобретатель: Караваев Ю.Д.,
Селиверстов В.В., Мельник Н.В., Скичко
Н.Д., Гаврилов В.А., Семенова И.Н., Числов
Ю.В., Зенов Н.И.

(73) Патентообладатель:

Караваев Юрий Дмитриевич,
Селиверстов Василий Витальевич,
Мельник Николай Васильевич,
Скичко Николай Данилович,
Гаврилов Владимир Андреевич

(71) Заявитель (прод.):

Семенова Ильвира Николаевна, Числов Юрий Васильевич, Зенов Николай Иванович

(73) Патентообладатель (прод.):

Семенова Ильвира Николаевна, Числов Юрий Васильевич, Зенов Николай Иванович

(54) АССОЦИРОВАННАЯ ВАКЦИНА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ И НЕКРОБАКТЕРИОЗА ЖИВОТНЫХ

(57) Реферат:

Изобретение относится к области ветеринарии и биотехнологии. Ассоциированная вакцина содержит адсорбированный на гидроокиси алюминия инактивированный формалином лейкоцидин - экзотоксин, суспензию живых спор сибиреязвенного вакцинного штамма 55-ВНИИВВим с исходной концентрацией $(5\text{--}5.5)\cdot10^9$ спор/см³ в физиологическом растворе, 1 М раствор метабисульфита натрия и масляный адьювант. Компоненты вакцины содержатся в сбалансированном соотношении. Лейкоцидин-экзотоксин представляет собой высокоочищенный белок

с молекулярной массой 18-20 кДа. Он получен из производственного штамма *Fusobacterium necrophagum* "0-1" ВИЭВ. Ассоциированную вакцину вводят однократно крупному рогатому скоту, овцам, козам, свиньям и северным оленям внутрькожно при помощи безыгольного инъектора в объеме 0,2-0,4 см³. Ассоциированная вакцина против сибирской язвы и некробактериоза является высокоеффективным препаратом, способным защитить животных одновременно от сибирской язвы и некробактериоза, и по иммуногенности превосходит составляющие ее моновакцины.

R
U
2
1
9
1
5
9
9
C
1

C
1
9
1
5
9
9
C
1



(19) RU (11) 2 191 599 (13) C1

(51) Int. Cl. 7

A 61 K 39/116, C 12 N

1/20//(A 61 K 39/116, 39:02,
39:07, 39:114), (C 12 N 1/20, C 12
R 1:07)

RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21), (22) Application: 2001129336/13, 01.11.2001

(24) Effective date for property rights: 01.11.2001

(46) Date of publication: 27.10.2002

(98) Mail address:

141142, Moskovskaja obl., Shchelkovskij r-n,
p. Biokombinat, 5, kv.97, N.V. Mel'niku

(71) Applicant:

Karavaev Jurij Dmitrievich,
Seliverstov Vasilij Vital'evich,
Mel'nik Nikolaj Vasil'evich,
Skichko Nikolaj Danilovich,
Gavrilov Vladimir Andreevich

(72) Inventor: Karavaev Ju.D.,

Seliverstov V.V., Mel'nik N.V., Skichko
N.D., Gavrilov V.A., Semenova I.N., Chislov
Ju.V., Zenov N.I.

(73) Proprietor:

Karavaev Jurij Dmitrievich,
Seliverstov Vasilij Vital'evich,
Mel'nik Nikolaj Vasil'evich,
Skichko Nikolaj Danilovich,
Gavrilov Vladimir Andreevich

(71) Applicant (cont.):

Semenova Il'vira Nikolaevna, Chislov Jurij Vasil'evich, Zenov Nikolaj Ivanovich

(73) Proprietor (cont.):

Semenova Il'vira Nikolaevna, Chislov Jurij Vasil'evich, Zenov Nikolaj Ivanovich

(54) ASSOCIATED VACCINE FOR PROPHYLAXIS OF ANTHRAX AND NECROBACTERIOSIS IN ANIMALS

(57) Abstract:

FIELD: veterinary science, biotechnology.
SUBSTANCE: vaccine contains aluminium hydroxide-adsorbed formalin-inactivated leucocidine-exotoxin, suspension of alive spores of anthracic vaccine strain 55-VNIIV&M at initial concentration being (5-5,5)•10⁹ spores/cm³ in physiological solution, 1 M-sodium metabisulfite solution and an oily adjuvant. Vaccine components are in a balanced ratio. Leucocidine-exotoxin is a highly purified protein at 18-20 kDa

molecular weight. It is obtained out of production strain *Fusobacterium necrophorum* "0-1" VIEV. Associated vaccine is once injected for cattle, sheep, goats, pigs and Siberian stags intracutaneously with the help of a needle-free injector at 0.2-0.4 cm³ volume. Associated vaccine against anthrax and necrobacteriosis is a highly efficient preparation to protect animals against these diseases, according to its immunogenicity it surpasses monovaccines that it contains. EFFECT: higher efficiency of prophylaxis. 2 ex

R
U
2
1
9
1
5
9
C
1

C
1
9
1
5
9
9
C
1

R U 2 1 9 1 5 9 9 C 1

Изобретение относится к области ветеринарии и биотехнологии и касается получения вакцины для профилактики сибирской язвы и некробактериоза животных.

Известна вакцина для профилактики некробактериоза рогатого скота, содержащая в равных объемных соотношениях инактивированные формалином эндотоксин и экзотоксин, полученные из местных эпизоотических культур возбудителя некробактериоза, и адьювант на основе минерального масла и ланолина (Патент RU 1816348, А 61 К 39/00, 1995).

Однако известная вакцина не достаточно иммуногенна, так как требует двукратного введения и обеспечивает иммунитет только против некробактериоза в течение 3,5-4 мес. Кроме того, при получении вакцины осуществляют предварительный подбор местных штаммов для каждого конкретного хозяйства, что невозможно при промышленном производстве.

Известна вакцина против сибирской язвы животных, содержащая суспензию живых спор бескапсульного анирулентного вакцинного штамма 55-ВНИИВВим возбудителя сибирской язвы (ТУ 9388-004-00008064-99)

Известна также инактивированная вакцина против некробактериоза животных, содержащая инактивированные формалином эндотоксин и экзотоксин, полученные из производственного штамма "0-1" ВИЭВ возбудителя некробактериоза, и адьювант на основе минерального масла и ланолина (Патент RU 2109519, А 61 К 39/02, 1998).

Существующие моновакцины применяют независимо друг от друга и не создают иммунитет у животных одновременно против сибирской язвы и некробактериоза. Использование этих вакцин в отдельности требует удвоенного количества трудозатрат и оказывает более сильное стрессовое состояние животных.

Известна ассоциированная вакцина против сибирской язвы, анаэробной дизентерии и инфекционной энтеротоксемии овец, содержащая суспензию жизнеспособных спор сибириязвенного вакцинного штамма 55-ВНИИВВим в исходной концентрации $(3\text{-}4)\cdot10^8$ спор в 1 см³, анатоксины *Clostridium perfringens* типов С с исходной активностью 100-150 ЕС в 1 см³ и Д с исходной активностью 60-80 ЕС в 1 см³ и физиологический раствор (Патент RU 2141340, А 61 К 39/16, 1999).

Однако известная ассоциированная вакцина не обеспечивает создание иммунитета против сибирской язвы и некробактериоза.

Аналогов вакцины против сибирской язвы и некробактериоза не обнаружено.

Задачей изобретения является разработка высокоиммуногенной и безвредной ассоциированной вакцины против сибирской язвы и некробактериоза животных.

Технический результат изобретения заключается в получении эффективной ассоциированной вакцины против сибирской язвы и некробактериоза, обеспечивающей создание длительного напряженного иммунитета у крупного рогатого скота, овец, коз, свиней и северных оленей и превосходящей по иммуногенности известные моновакцины.

Сущность изобретения заключается в следующем: ассоциированная вакцина против сибирской язвы и некробактериоза содержит инактивированный формалином лейкоцидин - экзотоксин, представляющий собой высокоочищенный белок с молекулярной массой 18-20 кДа, полученный из производственного штамма *Fusobacterium necrophorum* "0-1" ВИЭВ и адсорбированный на гидроокиси алюминия, суспензию живых спор сибириязвенного вакцинного штамма 55-ВНИИВВим с исходной концентрацией $(5\text{-}5,2)\cdot10^9$ спор/см³ в физиологическом растворе, 1 М раствор метабисульфита натрия и масляный адьювант при следующем соотношении компонентов, мас.%:

15 Адсорбированный на гидроокиси алюминия инактивированный формалином лейкоцидин - экзотоксин с м. м. 18-20 кДа из штамма *Fusobacterium necrophorum* "0-1" ВИЭВ с содержанием белка 5,5-6 мг% - 32,0 - 34,0

20 Суспензия живых спор сибириязвенного вакцинного штамма 55-ВНИИВВим с исходной концентрацией $(5\text{-}5,2)\cdot10^9$ в 1 см³ физиологического раствора - 1,0 - 1,2 1М раствор метабисульфита натрия - 2,2-2,4

25 Масляный адьювант - Остальное
Ассоциированную вакцину вводят однократно крупному рогатому скоту, овцам, козам, свиньям и северным оленям внутрькожно при помощи безыгольного инъектора в объеме 0,2-0,4 см³.

30 Предлагаемая ассоциированная вакцина против сибирской язвы и некробактериоза создает иммунитет у привитых животных одновременно против двух заболеваний, при этом по иммуногенности она превосходит все известные моновакцины против сибирской язвы и некробактериоза. Ассоциированная вакцина безвредна и анирулентна для лабораторных и сельскохозяйственных животных.

35 40 Изобретение иллюстрируется следующими примерами.

Пример 1. Ассоциированную вакцину против сибирской язвы и некробактериоза готовят следующим образом.

45 Для получения некробактериозного антигена - лейкоцидин - экзотоксина берут производственный штамм *Fusobacterium necrophorum* "0-1" ВИЭВ, культивируют, инактивируют формалином в конечной концентрации 0,4%, отделяют бакмассу от культуральной жидкости центрифугированием, из культуральной жидкости выделяют экзотоксин, подвергают его высокой очистке ультрафильтрацией на полых волокнах с размером пор 13-17 кДа и концентрируют до содержания белка (по Лоури) 5,5-6,0 мг%. Далее полученный антиген - лейкоцидин - эндотоксин сорбируют на гидроокиси алюминия. Лейкоцидин - эндотоксин содержит 5,5-6,0 мг% белка (лейкоцидина) с молекулярной массой 18-20 кДа. После сорбции антигена на гидрате окиси алюминия проверяют нейтрализацию остаточного количества формалина.

50 55 60 К 32,0 см³ полученного некробактериозного компонента добавляют 2,3 см³ 1 М раствора метабисульфита натрия. Смесь выдерживают 50 мин при t 20-25°C, периодически перемешивая. Затем

C 1 9 1 5 9 9 1 9 1 5 9 9 R U

RU 2191599C1

R U ? 1 9 1 5 9 9 C 1

добавляют 1,2 см суспензии спор сибиреязвенного вакцинного штамма 55-ВНИИВВИМ с концентрацией $5 \cdot 10^9$ спор в 1 см³ физиологического раствора и 64,5 см³ масляного адьюванта, например легкое минеральное масло "Маркопол-52". Вакцину эмульгируют в гомогенизаторе при 5000 об/мин в течение 20 мин.

Полученная вакцина представляет собой однородную эмульсию белого цвета

Пример 2. Полученную по примеру 1 ассоциированную вакцину против сибирской язвы и некробактериоза применяют для профилактических и вынужденных прививок клинически здоровых животных однократно. Молодняк, не достигший 3-месячного возраста, прививать ассоциированной вакциной не разрешается. Вакцину вводят внутрекожно с помощью безыгольного инъектора в бесшерстный участок тела крупному рогатому скоту и свиньям по 0,4 см³ (2 раза по 0,2 см³) овцам, козам и северным оленям по 0,2 см³.

Устойчивость к заражению сибирской язвой и некробактериозом определяют по величине антител в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) и реакции агглютинации (РА). У привитых овец титр противосибиреязвенных антител составил 1:160-1:320, титр противонекробактериозных антител 1:1024-1:2048, что свидетельствует о наличии иммунитета против сибирской язвы и некробактериоза.

При этом титр антител при введении ассоциированной вакцины значительно выше, чем при применении моновакцин, что свидетельствует о выработке более напряженного иммунитета. В сыворотках крови непривитых животных антител не

обнаружено.

Таким образом, ассоциированная вакцина против сибирской язвы и некробактериоза является высокоэффективным препаратом, способным защитить животных одновременно от сибирской язвы и некробактериоза, и по иммуногенности превосходит составляющие ее моновакцины.

Формула изобретения:

Ассоциированная вакцина против сибирской язвы и некробактериоза, характеризующаяся тем, что она содержит инактивированный формалином лейкоцидин - экзотоксин, представляющий собой высокоочищенный белок с молекулярной массой 18-20 кДа, полученный из производственного штамма *Fusobacterium necrophorum* "0-1" ВИЭВ и адсорбированный на гидроокиси алюминия, суспензию живых спор сибиреязвенного вакцинного штамма 55-ВНИИВВИМ с исходной концентрацией $(5-5,2) \cdot 10^9$ спор/см³ в физиологическом растворе, 1 М раствор метабисульфита натрия и масляный адьюvant при следующем соотношении компонентов, мас.%:

Адсорбированный на гидроокиси алюминия инактивированный формалином лейкоцидин - экзотоксин с м.м. 18-20 кДа из штамма *Fusobacterium necrophorum* "0-1" ВИЭВ с содержанием белка 5,5-6 мг% - 32,0-34,0

Суспензия живых спор сибиреязвенного вакцинного штамма 55-ВНИИВВИМ с исходной концентрацией $(5-5,2) \cdot 10^9$ в 1 см³ физиологического раствора - 1,0-1,2 1М раствор метабисульфита натрия - 2,2-2,4

Масляный адьюvant - Остальноев

35

40

45

50

55

60

-4-

R U 2 1 9 1 5 9 9 C 1